

Просто про генетичну модифікацію: у фокусі метод CRISPR

Vitaliy Bezsheiko

Редакція журналу

Нещодавно американські вчені успішно модифікували гени людського ембріону за допомогою CRISPR. В статті представлений опис цього методу.

Актуальність

В липні цього року американськими вченими під керівництвом Шухрата Міталіпова із Центру генної та ембріональної терапії Орегонського університету вдалося успішно провести генетичну модифікацію людського ембріону. Це була вже не перша подібна спроба, але вперше було проведено подібний експеримент без побічних ефектів. Із етичних міркувань генетично модифікованому ембріону дали можливість розвиватись всього декілька днів.

Для цього експерименту вчені використали метод CRISPR (clustered regularly interspaced short palindromic repeats) або кластерні паліндромні повтори з регулярними проміжками. Цьому методу всього лише 5 років, хоча змінювати геном вчені можуть вже набагато більше часу.

Якщо коротко, технології рекомбінування ДНК дозволяють вставляти певні гени в плазміді (кругла молекула ДНК) або у вірус. Після цього клітина/бактерія може продукувати те, що потрібно людині. Таким чином, ми повторюємо те, що ще мільярди років тому навчилися робити віруси – генетично змінювати заражену клітину для використання її в своїх потребах. Використання вірусних векторів (спеціально змінених вірусів) дозволяє проводити генетичну терапію на людях.

CRISPR – це не перший метод, який використовують в таких цілях, але в порівнянні із іншими він простіший, швидший, дешевший та більш потужний.

Як цей метод працює?

CRISPR базується на тому факті, що ланцюжки нуклеїнової кислоти (ДНК або РНК) із певною послідовністю основ природньо зв'язується із іншим комплементарним до них ланцюжками. Основою технології CRISPR є комплекс РНК та спеціальних протеїнів, найбільш широко використовується комплекс із назвою CRISPR-Cas9 [1](#).

Задача протеїнів (Cas-9) – «розрізати» нитку ДНК, яку ми хочемо змінити, саме в тому місці, де нам потрібно. **Задача РНК (CRISPR)** – зв'язатись із ниткою ДНК. CRISPR може змінювати структури гену шляхом точкових мутацій. Наприклад, CRISPR може трансформувати ген гемоглобіну S (гемоглобін при серповидноклітинній анемії) у ген гемоглобіну А. В цьому випадку Cas-9 розріже нитку ДНК у місці кодування гемоглобіну S, а замість цієї частини буде встановлено коротка послідовність ДНК від гену нормального гемоглобіну А ([рис. 1](#)).

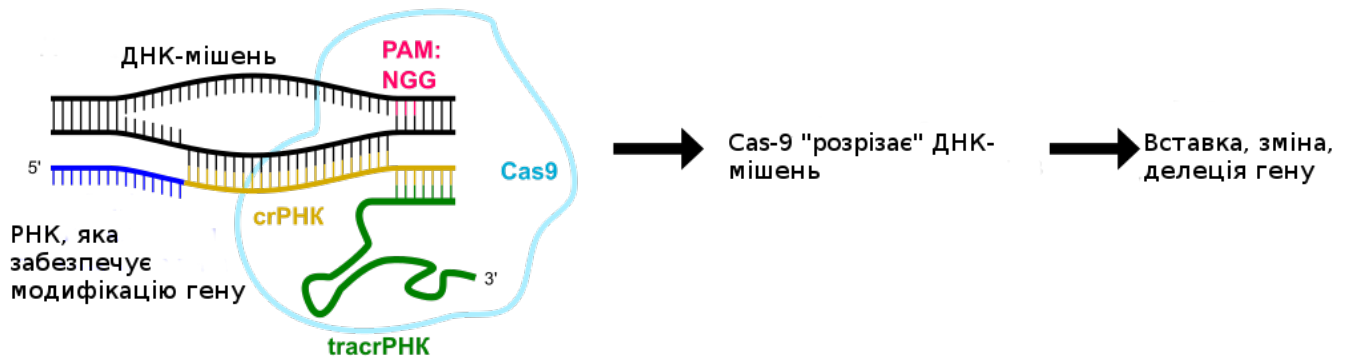


Рисунок 1. CRISPR-Cas9 у дії (малюнок із Вікіпедії, модифікований автором статті 2).

Окрім того, CRISPR може також впливати на експресію генів. Це дозволяє регулювати продукцію протеїнів – зменшувати, збільшити, повністю «відключати». Така дія відбувається за рахунок зміни в некодуючій частині ДНК, яка контролює експресію генів – CRISPR просто вставляється в ці ділянки замість вирізаних.

CRISPR може бути доставлена в живий організм з використанням вірусних векторів, ліпідних наночастинок тощо. Зазвичай ціллю є спеціальна група клітин, наприклад, гемопоетичні клітини у випадку із гемоглобіном.

З іншого боку цей метод не ідеальний. Інколи можуть бути випадково модифікованими послідовності нуклеїнової кислоти, які не були ціллю. Також кожна генетична модифікація повинна бути детально продумана, оскільки одні генетичні зміни можуть спровокувати «купу» незапланованих ефектів. Якщо взяти простий приклад із гемоглобіном S – цей генетичний дефект дозволяє організму бути менш уразливим щодо малярії. Якщо його змінити, переваги при малярії зникнуть. Більше того, поки що вчені не знають до яких результатів може призвести корекція того чи іншого варіанту поліморфізму.

Як це може допомогти в медичній практиці?

Наразі на тваринних моделях було показано, що CRISPR допомагає організму бути менш уразливим до раку простати. Також він дозволив розробити простий метод для експрес-діагностики віруса Зіка або може використовуватись для зміни генів у Т-лімфоцитах 3, 4.

Головна роль цього методу може полягати у лікуванні найбільш тяжких захворювань. Хоча тут все ж залишається багато питань. Так, більшість хвороб викликають не окремі гени, а групи генів, кожен із яких лише ненабагато підвищує ризик розвитку захворювання. В цьому випадку змінювати треба надто багато ділянок ДНК. На додачу до цього, як це не дивно, модифікація стилю життя все ж має суттєвіший ефект на велику кількість хвороб, аніж генетична модифікація. І це навряд чи зміниться в найближчому, і не дуже, майбутньому.

До речі, сам експеримент з генетичною модифікацією людського ембріону вже опублікований в журналі «Nature». Він знаходиться у відкритому доступі, тому із ним може ознайомитись будь-який бажаючий 5.

References

1. Komaroff A. Gene Editing Using CRISPR: Why the Excitement?. JAMA. 2017;.
2. Anselm V. CRISPR-Cas9 mode of action. Wikipedia. 2015;.
3. Gasiunas G, Barrangou R, Horvath P, Siksnys V. Cas9-crRNA ribonucleoprotein complex



- mediates specific DNA cleavage for adaptive immunity in bacteria. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2012;109(39):2579-86.
4. Cong L, Ran F, Cox D. Multiplex genome engineering using CRISPR/Cas systems. *Science*. 2013;339(6121):819-23.
 5. Ma H, Marti-Gutierrez N, Park S, Wu J, Lee Y, Suzuki K, Koski A, Ji D, Hayama T, Ahmed R, Darby H, Van DC, Li Y, Kang E, Park A, Kim D, Kim S, Gong J, Gu Y, Xu X, Battaglia D, Krieg S, Lee D, Wu D, Wolf D, Heitner S, Belmonte J, Amato P, Kim J, Kaul S, Mitalipov S. *Nature*. 2017.